

بسمه تعالی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی قزوین



معاونت پژوهشی

جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان:

بررسی بیان ژن پروتئین NSP4 روتاویروس سویه RF با حذف دومین اسهالی

آن در سلول‌های BL-21 DE3 اشرشیا کلی

نگارنده: سیاوش آذری

اساتید راهنما: دکتر مهدی سهمانی، دکتر فرزانه پورعسگری

اساتید مشاور: دکتر مجید تبیانیان، دکتر نعمت اله غیبی

محل اجرا: مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی

دانشگاه علوم پزشکی قزوین

سال تحصیلی ۹۲-۹۳

خلاصه فارسی

هدف: پروتئین NSP4 اولین انتروتوکسین ویروسی شناخته شده است که باعث اسهال وابسته به سن می شود. آمینواسیدهای ۱۳۵-۱۱۴ از این گلیکوپروتئین به عنوان ناحیه ایجاء کننده ی اسهال شناخته می شوند. هدف این مطالعه بررسی بیان NSP4 در *E. coli* پس از حذف دومین اسهالی آن است.

مواد و روش ها: در این مطالعه از روش SOEing PCR، برای حذف ناحیه ایجاء کننده ی اسهال از cDNA کد کننده NSP4، استفاده شد. سپس قطعات NSP4 کامل (FL-NSP4) و NSP4 برش خورده (S-NSP4) هر دو در پلاسمیدهای بیانی pET-32c و pGEX-6P-2 کلون شدند. بیان پروتئین های نو ترکیب در *E. coli* B121 DE3 با روش وسترن بلاتینگ بررسی شد. **نتایج:** بیان پروتئین FL-NSP4 تنها در سویه ی حاوی این قطعه در پلاسمید pGEX-6P-2 (pGEX:FL-NSP4) مشاهده گردید و نمونه گیری تا ساعت سوم پس از القای بیان، نشان داد که میزان پروتئین FL-NSP4 با گذشت زمان کاهش می یابد که می تواند به دلیل سمی بودن و/یا از بین رفتن پروتئین باشد. از طرف دیگر بیان پروتئین S-NSP4 تنها در سویه ی حاوی این قطعه در pET-32c (pET:S-NSP4) مشاهده شد. میزان پروتئین S-NSP4 مشاهده شده در وسترن بلات ها نسبتاً کم بود که این نیز می تواند به دلیل سمی بودن و/یا از بین رفتن آن باشد.

بحث: پایداری، سمیت و عملکرد پروتئین ها می تواند تحت تأثیر پروتئین های متصل به آن ها (فیوژن تگ ها) باشد زیرا این تگ ها می توانند بر فولدینگ پروتئین مورد نظر اثر بگذارند. همچنین نتایج بدست آمده نشان می دهد که تولید پروتئین NSP4 فاقد دومین اسهالی می تواند راه را برای مطالعات ایمنی شناسی و احتمالاً تولید واکسن هموار کند.